

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 64-068272

(43)Date of publication of application : 14.03.1989

(51)Int.Cl.

A61M 1/36  
A61K 45/00  
B01D 15/08  
B01J 20/26  
G01N 33/53  
G01N 33/547

(21)Application number : 62-224472

(71)Applicant : KANEGAFUCHI CHEM IND CO LTD

(22)Date of filing : 08.09.1987

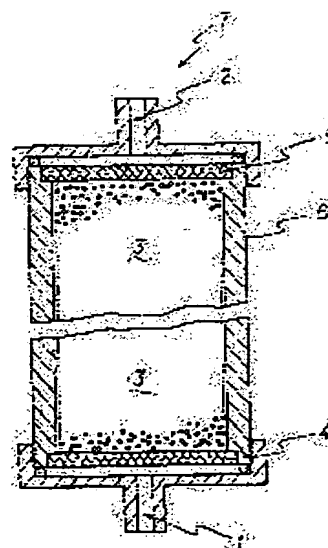
(72)Inventor : YOKOHARI RYUICHI  
AOZUKA SHINICHI  
KINOSHITA MAKIKO  
FUNAHASHI TAKASHI  
TANI NOBUTAKA

## (54) ADSORBENT AND REMOVING APPARATUS

## (57)Abstract:

PURPOSE: To selectively adsorb only an anti-DNA antibody substantially without losing effective components of body-fluid, by fixing a compound with an anionic functional group to a water-insoluble porous material.

CONSTITUTION: A removing apparatus for an anti-DNA antibody includes an adsorbent 3, filters or meshes 4 and 5 which are disposed in a container 7 with a fluid inlet 1 and an outlet 2. The adsorbent 3 is prepared by fixing a compound with an anionic functional group to a water-insoluble porous material; it is formed, for example, by polymerization using a compound containing an anionic functional group or a functional group which can be easily converted to an anionic one as a monomer or a bridge formation agent.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

Best Available Copy

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭64-68272

⑨ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和64年(1989)3月14日

A 61 M 1/36  
 A 61 K 45/00  
 B 01 D 15/08  
 B 01 J 20/26  
 G 01 N 33/53  
 33/547

3 3 3  
 ADQ

7720-4C  
 7252-4C  
 6953-4D  
 H-6939-4G  
 M-7906-2G  
 7906-2G

審査請求 未請求 発明の数 2 (全9頁)

⑭ 発明の名称 吸着体および除去装置

⑮ 特 願 昭62-224472

⑯ 出 願 昭62(1987)9月8日

⑰ 発 明 者	横 張	龍 一	千葉県松戸市三矢小台1-5-9
⑰ 発 明 者	青 塚	新 一	千葉県東葛飾郡沼南町高柳1742-23
⑰ 発 明 者	木 下	牧 子	東京都港区三田5-11-3-801
⑰ 発 明 者	舟 橋	孝	兵庫県神戸市東灘区住吉山手1-7-6
⑰ 発 明 者	谷	紋 孝	大阪府大阪市阿倍野区文の里4丁目17-29
⑰ 出 願 人	鐘淵化学工業株式会社		大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号
⑰ 代 理 人	弁理士 朝日奈 宗太		外1名

## 明 細 書

## 1 発明の名称

吸着体および除去装置

## 2 特許請求の範囲

- 1 水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物が固定されてなる抗DNA抗体の吸着体。
- 2 アニオン性官能基が硫酸エステル基、スルホン酸基、カルボキシル基およびリン酸エステル基からなる群より選ばれた少なくとも1種類よりなるものである特許請求の範囲第1項記載の抗DNA抗体の吸着体。
- 3 アニオン性官能基を有する化合物が、1分子内に複数のアニオン性官能基を有するポリアニオン化合物である特許請求の範囲第1項記載の抗DNA抗体の吸着体。
- 4 水不溶性多孔質体が水酸基を有する化合物よりなる特許請求の範囲第1項記載の抗DNA

抗体の吸着体。

- 5 流体の流入口および流出口を有する容器、流体および該流体に含まれる成分は通過できるが、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物が固定されてなる抗DNA抗体の吸着体は通過できないフィルター、および前記容器内に充填された前記抗DNA抗体の吸着体からなる抗DNA抗体の除去装置。

## 3 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は体液中から抗DNA抗体を吸着除去あるいは吸着回収するための抗DNA抗体の吸着体およびそれを用いる抗DNA抗体の除去装置に関する。

〔従来の技術および発明が解決しようとする問題点〕

自己免疫疾患はその名称のごとく自己の組織の構成成分に対する抗体（以下、自己抗体という）が出現する疾患であるが、代表的な自己免

疫疾患である全身性エリスマトーデス（以下、SLE という）では細胞の核成分、とりわけデオキシリボ核酸（以下、DNA という）に対する抗体（以下、抗DNA抗体という）が体液中に出現し、その病態と密接な関連があることが知られている。産生された自己抗体が病気の発症に関わる機序は必ずしも明確ではないが、自己抗体自身が細胞を障害する機構、あるいは自己抗体が抗原と結合して免疫複合体を形成し組織に沈着することにより組織障害をおこす機構などが提唱されている。SLE のばあいは発生した抗DNA抗体が同じく血中に流出した細胞由来のDNAと免疫複合体を形成し、血管壁、腎糸球体などに沈着することによりそれぞれ血管炎、ループス腎炎を発症することが知られており、実際SLEでは腎不全により死亡する例が多い。

このように産生した抗DNA抗体または該抗体とDNAとの免疫複合体によりさまざまな症状が引き起こされるわけであるから、SLEの治療には抗DNA抗体のコントロールが非常に重要であ

(2) る。

従来より抗DNA抗体の産生を抑制する目的でステロイド剤、免疫抑制剤、免疫調節剤、抗炎症剤などがSLEの治療に広く用いられている。なかでもステロイド剤はもっとも一般的に用いられ、パルス治療と呼ばれるステロイドの短期超大量投与療法もしばしば行なわれている。しかしながら、ステロイドは少量の投与によっても副作用を生じさせやすいので、ステロイドの短期超大量投与療法によればさらに大きな副作用を生じさせやすくなるのは自明である。また、これらの薬剤は長期にわたって用いられることが多く、そのようなばあいには副作用がさらに出やすく、また薬剤耐性によりしだいに増量しなければならないことも多いため、症例によってはこれらの薬剤の使用が不可能であったり、十分な効果を発揮しないばあいも多い。とくにSLEの活動期は抗DNA抗体の抑制がもっとも必要な時期であるにもかかわらず、上記の理由によりパルス療法や免疫抑制剤などの薬剤を用い

る強力な療法を採用できないばあいも多い。

一方、これらの薬剤療法とは別のアプローチとして、体液中の抗DNA抗体を対外循環により直接除去しようとする試みがなされている。もっとも簡便な方法は、抗DNA抗体を含む患者の血漿を健康人の血漿と交換する、いわゆる血漿交換療法である。この方法によって血中の抗DNA抗体は大幅に低下し、症状の改善が見られている。しかしながらこの方法では大量の健康血漿が必要となり高価であるばかりでなく、該療法処置中に血清肝炎などの感染の危険性を伴うため広く普及するには至っていない。

血漿交換療法では血漿中のすべての成分が除去され、健康血漿と交換されるわけであるが、これに対して病因物質である抗DNA抗体を選択的に除去する目的で、分子サイズにより病因物質を分離する血漿分離膜法が開発された。この方法では膜により血漿を高分子量成分と低分子量成分に分離し、病因物質が含まれている高分子量成分を廃棄し、主要蛋白であるアルブミン

が含まれている低分子量成分を患者に戻すが、抗DNA抗体は分子量約16万のIgG(免疫グロブリンG)が主であり、アルブミン(分子量約6万)と分子量が近いいため両者間の分離は難しく、抗DNA抗体を除去する際にアルブミンも大量に除去され、さらに病因物質と同等以上の分子量の蛋白はすべて除去されるなどの欠点がある。

したがって病因物質である抗DNA抗体をより選択的に除去し、体液中の他の有用成分がほとんど失われることのない除去手段の出現が望まれていた。

そこで本発明者らは、かかる実情に鑑み鋭意研究を重ねた結果、体液中の有効成分をほとんど失うことなく抗DNA抗体のみを選択的に吸着しうる吸着体を見出し、本発明を完成するに至った。

〔問題点を解決するための手段〕

すなわち本発明は、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物が固定されてなる抗DNA抗体の吸着体ならびに流体の流入口およ

び流出口を有する容器、流体および該流体に含まれる成分は通過できるが、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物が固定されてなる抗DNA抗体の吸着体は通過できないフィルター、および前記容器内に充填された前記抗DNA抗体の吸着体からなる抗DNA抗体の除去装置に関する。

#### 【実施例】

本明細書において体液とは血液、血漿、血清、腹水、リンパ液、関節内液およびこれらからえられた分画成分、ならびにその他の生体由来の液性成分をいう。

本発明に用いる水不溶性多孔質体は、大きな径の連続した細孔を有するものが好ましい。すなわち抗DNA抗体はIgG、IgM（免疫グロブリンM）などの免疫グロブリンからなり、分子量が16～90万の巨大分子であるため、これを効率よく吸着するためには抗DNA抗体が容易に多孔質体内に侵入しうることが必要である。

細孔径の測定方法には種々あり、水銀圧入法

(3) がもっともよく用いられているが、親水性多孔質体のばあいには適用が難しい。これにかわる細孔径の目安として排除限界分子量がよく用いられ、親水性多孔質体、疎水性多孔質体いずれにも適用できる。排除限界分子量とは成書（たとえば波多野博行、花井俊彦著、実験高速液体クロマトグラフィー、化学同人）などに述べられているごとく、ゲル浸透クロマトグラフィーにおいて細孔内に侵入できない（排除される）分子のうちもっとも小さい分子量をもつ物の分子量をいう。

排除限界分子量は対象とする化合物により異なることが知られており、一般に球状蛋白質、デキストラン、ポリエチレングリコールなどについてよく調べられており、抗DNA抗体にもっとも類似していると思われる球状蛋白質（ビールスを含む）を用いてえられた値を用いるのが適当である。

排除限界の異なる種々の水不溶性多孔質体を用いて検討した結果、予想に反し排除限界分子

量が抗DNA抗体の分子量より小さい10万程度のものである程度の吸着能を示し、また細孔径の大きいもの程能力が大きいわけではなく、むしろ能力が低下したり抗DNA抗体以外の蛋白が吸着されること、すなわち最適な細孔径の範囲が存在することが明らかになった。すなわち10万未満の排除限界分子量を持つ水不溶性多孔質体を用いたばあいは抗DNA抗体の吸着量は小さく実用に耐えないが、排除限界分子量が10万ないし15万と抗DNA抗体の分子量に近い水不溶性多孔質体を用いてもある程度実用に供しうる吸着体がえられた。一方排除限界分子量が大きくなるにつれ、抗DNA抗体の吸着量は増加するがやがて頭打ちとなり、排除限界分子量が6000万以上になると表面積が少なすぎ吸着量は目立って低下するばかりでなく、目的とする抗DNA抗体以外の成分の吸着、すなわち非特異吸着が増加し選択性がいちじるしく低下する。

したがって本発明に用いる水不溶性多孔質体の好ましい排除限界分子量は10万以上6000万以

下であり、さらに好ましくはより選択性吸着容量の大きい点から40万以上2000万以下であるのがよい。

つぎに水不溶性多孔質体の多孔構造については表面多孔性よりも全多孔性が好ましく、空孔容積が吸着容量が大きいという点から20%以上であることが好ましい。水不溶性多孔質体の形状は、粒状、球状、繊維状、膜状、ホローファイバー状など任意の形状を選ぶことができる。粒子状の水不溶性多孔質体を用いるばあい、その粒子径は1 $\mu$ m未満のばあい圧力損失が大きく、5000 $\mu$ mをこえるばあい吸着容量が小さい点から1 $\mu$ m以上5000 $\mu$ m以下であるのが好ましい。

本発明に用いる水不溶性多孔質体は有機性、無機性いずれであってもよいが、目的とする抗DNA抗体以外の体液成分の吸着（いわゆる非特異吸着）の少ないものが好ましい。親水性である方が非特異吸着が少ないので水不溶性多孔質体は疎水性であるよりも、親水性であるほうが好ましく、分子中に水酸基を有する化合物より

なる水不溶性多孔質体がより好ましい。

本発明に使用する水不溶性多孔質体の代表例としては、アガロース、デキストラン、ポリアクリルアミドなどの軟質多孔質体、多孔質ガラス、多孔質シリカゲルなどの無機多孔質体、ポリメチルメタクリレート、ポリビニルアルコール、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体などの合成高分子および/またはセルロースなどの天然高分子を原料とする多孔質ポリマーハードゲルなどがあげられるがこれらに限定されるわけではない。

本発明の吸着体を対外循環治療に用いる際には、血液、血漿のごとき抗粘性流体を高速で流す必要があるため、圧密化を引起こさない十分な機械的強度を有する硬質水不溶性多孔質体を用いるのが好ましい。すなわち硬質多孔質体とは後記参考例に示すごとく、水不溶性多孔質体を円筒状カラムに均一に充填し、水性流体を流通したばあいの圧力損失と流量との関係が少なくとも  $0.3 \text{ kg/cm}^2$  まで直接関係にあるものをい

点で好ましい。ポリアニオン化合物が有するアニオン性官能基は1種類であってもよいし、2種類であってもよい。

本発明に用いるポリアニオン化合物の代表例としては、ポリアクリル酸、ポリビニル硫酸、ポリビニルスルホン酸、ポリビニルリン酸、ポリスチレンスルホン酸、ポリスチレンリン酸、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、ポリメタクリル酸、ポリリン酸、スチレン-マレイン酸共重合体などの合成ポリアニオン化合物、およびヘパリン、デキストラン硫酸、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸、ホスホマンナン、キチン、キトサンなどのアニオン性官能基含有多量類があげられるがこれらに限定されるわけではない。

本発明の吸着体に固定されているアニオン性官能基を有する化合物は1種類であってもよいし、2種類以上であってもよい。

本発明の吸着体は、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物が固定された状態

(4) う。

本発明に用いるアニオン性官能基はpHが中性付近で負に帯電するような官能基であればいかなるものも使用しうる。これらの代表例としては、カルボキシル基、スルホン酸基、スルホン基、硫酸エステル基、シラノール基、リン酸エステル基、フェノール性水酸基などがあげられるがこれらに限定されるわけではない。

なかでもカルボキシル基、スルホン酸基、硫酸エステル基およびリン酸エステル基が抗DNA抗体に対する親和性が強く好ましい。

アニオン性官能基を有する化合物としては、分子内に1つのアニオン性官能基を有するモノアニオン化合物であっても、複数のアニオン性官能基を有するポリアニオン化合物であってもよい。ポリアニオン化合物は抗DNA抗体に対する親和性が大きく、また単位量の多孔質体に多くのアニオン性官能基を導入しやすいので好ましい。なかでも分子量が1000以上のポリアニオン化合物は親和性、アニオン性官能基導入量の

のものをいう。そのようなアニオン性官能基を有する化合物の固定された状態をうるためのアニオン性官能基の吸着体への導入方法は種々あり、いかなる方法で導入してもよいが、代表的な導入方法としては

- (1) アニオン性官能基あるいは容易にアニオン性官能基に変換しうる官能基を含有する化合物をモノマーあるいは架橋剤として用いる重合によって吸着体を形成させる方法、
  - (2) アニオン性官能基を含有する化合物を水不溶性多孔質体に固定させる方法、
  - (3) アニオン性官能基を形成する化合物と水不溶性多孔質体を直接反応させることによって、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物を固定させる方法
- などがあげられる。

もちろんガラス、シリカ、アルミナなどともアニオン性官能基を含有するアニオン性官能基含有化合物を吸着体として用いてもよい。

(1)の方法において用いるアニオン性官能基あ

るいは容易にアニオン性官能基に変換しうる官能基を含有するモノマーあるいは架橋剤の代表例としては、アクリル酸およびそのエステル、メタクリル酸およびそのエステル、スチレンスルホン酸などがあげられるがこれらに限定されるわけではない。

②の方法、すなわちアニオン性官能基を含有する化合物を水不溶性多孔質体に固定させる方法としては、物理的吸着による方法、イオン結合による方法、共有結合により固定する方法などがあり、いかなる方法を用いてもよいが、治療目的に吸着体を用いるには、滅菌時あるいは治療中にアニオン性官能基含有化合物が離脱しないことが重要であるので、強固な固定が可能な共有結合が好ましい。

共有結合によりアニオン性官能基含有化合物を固定させるばあい、アニオン性官能基含有化合物がアニオン性官能基以外に固定に利用できる官能基を有するのが好ましい。

固定に利用できる官能基の代表例としては、

つぎに③の方法、すなわちアニオン性官能基を形成する化合物と水不溶性多孔質体とを反応させることによって、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物を固定させてアニオン性官能基を導入する方法の代表例として水酸基含有多孔質体に硫酸エステル基を導入する反応があげられる。このばあい、水酸基含有水不溶性多孔質体とクロロスルホン酸、濃硫酸などの試薬を反応させることによって直接硫酸エステル基を導入することができる。

導入されるアニオン性官能基の量は、吸着体 1 ml あたり  $0.01 \mu\text{mol}$  以上  $10\text{mmol}$  以下が好ましい。 $0.01 \mu\text{mol}$  未満のばあい吸着能力が充分でなく、 $10\text{mmol}$  をこえるばあい非特異吸着が多すぎて実用に供することが困難になる。より好ましいアニオン性官能基導入量は  $1 \mu\text{mol}$  以上  $100 \mu\text{mol}$  以下であるのがよい。

本発明の吸着体を用いて体液から抗 DNA 抗体を除去する方法には種々あり、いかなる方法を用いてもよいが、流体の流入口および流出口を

アミノ基、アミド基、カルボキシ基、酸無水物基、スクシニルイミド基、水酸基、チオール基、アルデヒド基、ハロゲン基、エポキシ基、シラノール基などがあげられるがこれらに限定されるわけではない。

これらの官能基を有するアニオン性官能基含有化合物は多数存在するが、実施例に記載したタウリン、スルファニル酸、グリシン、ホスホリルエタノールアミンなどはその一例である。

また、アニオン性官能基を含有する化合物のうち硫酸エステル基を含有する化合物の代表例としては、アルコール、糖類、グリコールなどの水酸基含有化合物の硫酸エステルがあげられるが、これらのなかでも多価アルコールの部分硫酸エステル化物、とりわけ糖類の硫酸エステル化物が硫酸エステル基、固定に必要な官能基の双方を含んでいるうえに、生体適合性および活性ともに高く、さらに硫酸化多糖類は容易に水不溶性多孔質体に固定しうることからとくに好ましい。

有する容器、流体および該流体に含まれる成分は通過できるが、水不溶性多孔質体にアニオン性官能基を有する化合物が固定されてなる抗 DNA 抗体の吸着体は通過できないフィルター、および前記容器内に充填された前記抗 DNA 抗体の吸着体からなる抗 DNA 抗体の除去装置に体液を通過する方法が簡便で好ましい。

第 2 図に本発明の抗 DNA 抗体の除去装置の一実施例の概略断面図を示す。第 2 図中、(1)および(2)はそれぞれの流体の流入口と流出口、(3)は本発明の吸着体、(4)および(5)は流体および流体に含まれる成分は通過できるが本発明の吸着体は通過できないフィルターまたはメッシュ、(6)はカラム、(7)は容器である。ここで流体の流入口側のフィルター(4)は存在しなくてもよい。

以下、実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はかかる実施例のみに限定されるものではない。

#### 参考例

両端に孔径  $15 \mu\text{m}$  のフィルターを装着したガラ

ス製カラム（内径9mm、カラム長150mm）にアガロースゲル（Bilogel A5m：商品名、バイオラド社製、粒径50～100メッシュ）、合成ポリマーよりなるゲル、トヨパールHV65（商品名、東洋曹達工業製、粒径50～100 $\mu$ m）、および多孔質セルロースゲル、セルロファインGC-700

（商品名、チッソ製、粒径45～100 $\mu$ m）をそれぞれ均一に充填し、ベリスタティックポンプによりカラム内に水を流通し、流量と圧力損失 $\Delta P$ との関係を求めた。その結果を第1図に示す。同図より明らかなように軟質ゲルであるアガロースゲルは一定の流量以上では圧密化を起こし、圧力を増加させても流量が増加しないのに対し、トヨパール、セルロファインなどの硬質ゲルは圧力の増加にほぼ比例して流量が増加する。

#### 製造例1

多孔質セルロースゲルであるCKゲルA3（商品名、チッソ製、球状蛋白質の排除限界分子量5000万、粒径45～105 $\mu$ m）100mlに20% NaOH

を加えて振盪し、0.5%モノエタノールアミン水溶液を加えて振盪し未反応のエポキシ基を封止してホスホリルエタノールアミンが固定されたセルロースゲルをえた。固定されたホスホリルエタノールアミンにより導入されたアニオン性官能基量は吸着体1mlあたり4 $\mu$ molであった。

#### 実施例3

製造例1でえたエポキシ化ゲル5mlに分子量約5000、イオウ含量15%のデキストラン硫酸ナトリウム4gおよび水5mlを加えpH9に調整して45℃で18時間振盪した。その後、ゲルを濾別して、2M食塩水溶液、0.5N食塩水溶液および水を用いてこの順に洗浄し、0.5%モノエタノールアミン水溶液を加えて振盪し未反応のエポキシ基を封止してデキストラン硫酸ナトリウムが固定されたセルロースゲルをえた。固定されたデキストラン硫酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体1mlあたり10 $\mu$ molであった。

#### 実施例4

40g、ヘプタン120gおよびノニオン系界面活性剤トゥイーン20（商品名：花王アトラス製）を10滴加えた。40℃で2時間振盪後、エピクロルヒドリン50gを加えて2時間振盪し、ゲルを水洗濾過してエポキシ化セルロースゲル（以下、エポキシ化ゲルという）をえた。

#### 実施例1

製造例1でえたエポキシ化ゲル5mlにスルファニル酸0.17gを10mlの水に溶解してpH9.9に調整した溶液を加え、常温で24時間振盪し、0.5%モノエタノールアミン水溶液を加えて振盪し未反応のエポキシ基を封止してスルファニル酸が固定されたセルロースゲルをえた。固定されたスルファニル酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体1mlあたり6.5 $\mu$ molであった。

#### 実施例2

製造例1でえたエポキシ化ゲル5mlにホスホリルエタノールアミン0.1gを10mlの水に溶解してpH9.6に調整した溶液を加え、40℃で4時

製造例1でえたエポキシ化ゲル5mlにグリシン0.22gを10mlの水に溶解してpH9.8に調整した溶液を加え、常温で24時間振盪し、0.5%モノエタノールアミン水溶液を加えて振盪し未反応のエポキシ基を封止してグリシンが固定されたセルロースゲルをえた。固定されたグリシンにより導入されたアニオン性官能基量は吸着体1mlあたり9 $\mu$ molであった。

#### 実施例5

製造例1でえたエポキシ化ゲル5mlにタウリン0.37gを10mlの水に溶解してpH9.0に調整した溶液を加え、常温で24時間振盪し、0.5%モノエタノールアミン水溶液を加えて振盪し未反応のエポキシ基を封止してタウリンが固定されたセルロースゲルをえた。固定されたタウリンにより導入されたアニオン性官能基量は吸着体1mlあたり5 $\mu$ molであった。

#### 実施例6

CKゲルA-3、10mlを水洗後吸引濾過し、これにジメチルスルホキシド6ml、2N-NaOH2.6ml、



(7)

エピクロルヒドリン 1.5 ml を加え 40℃ で 2 時間撹拌した。反応後ゲルを濾別、水洗してエポキシ基の導入されたセルロースゲルをえた。

これに濃アンモニア水 6 ml を加え 40℃ で 2 時間反応させてアミノ化セルロースゲルをえた。

このゲル 5 ml に分子量 19~50 万のポリアクリル酸ナトリウム 0.2 g を 10 ml の水に溶解して pH 4.5 に調整した溶液を加え、さらに 1-エチル-3-(ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド 200 mg を pH 4.5 に保ちながら添加し、4℃ で 24 時間振盪した。反応後ゲルを濾別、水洗してポリアクリル酸の導入されたセルロースゲルをえた。固定されたポリアクリル酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体 1 ml あたり 14  $\mu\text{mol}$  であった。

#### 実施例 7

多孔質セルロースゲルを CK-A22 (商品名、チッソ精製、球状蛋白質の排除限界分子量 2000 万、粒径 45~105  $\mu\text{m}$ 、架橋ゲル)、セルロファイン GCL-2000 (商品名、チッソ精製、球状蛋白質の

様の方法でデキストラン硫酸ナトリウムを固定した。固定されたデキストラン硫酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体 1 ml あたり 20  $\mu\text{mol}$  であった。

#### 実施例 9

ポリメタクリル酸メチルを主成分とする親水性多孔性硬質ヒドロゲルである FP-HG (商品名、三菱化成精製、球状蛋白質の排除限界分子量 400 万、粒径 120  $\mu\text{m}$ ) を用いたほかは製造例 1 および実施例 3 と同様にしてデキストラン硫酸が固定されたゲルをえた。固定されたデキストラン硫酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体 1 ml あたり 9  $\mu\text{mol}$  であった。

#### 実施例 10

実施例 6 と同様にしてえたアミノ化セルロースゲル 2 g に、分子量 5000、イオウ含量 15% のデキストラン硫酸ナトリウム 4 g を 0.1 N リン酸バッファー (pH 8.0) 8 ml に溶解した液を加え室温で 16 時間振盪した。反応後  $\text{NaCNBH}_3$  20 mg を加え室温で 30 分撹拌後、40℃ で 4 時間加熱したの

排除限界分子量 300 万、粒径 45~105  $\mu\text{m}$ 、架橋ゲル)、セルロファイン GC-700 (商品名、チッソ精製、球状蛋白質の排除限界分子量 40 万、粒径 45~105  $\mu\text{m}$ )、セルロファイン GC-200 (商品名、チッソ精製、球状蛋白質の排除限界分子量 12 万、粒径 45~105  $\mu\text{m}$ )、セルロファイン GCL-90 (商品名、チッソ精製、球状蛋白質の排除限界分子量 3.5 万、粒径 45~105  $\mu\text{m}$ ) にかえたほかは製造例 1 および実施例 3 と同様にしてデキストラン硫酸ナトリウムの固定されたセルロースゲルをえた。固定されたデキストラン硫酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体 1 ml あたりそれぞれ 16、18、24、30、37  $\mu\text{mol}$  であった。

#### 実施例 8

エポキシ化架橋アガロースゲルであるエポキシアクティベイティッドセファロース CL-6B (商品名、ファルマシアファインケミカルズ社製、球状蛋白質の排除限界分子量 400 万、粒径 45~185  $\mu\text{m}$ ) ゲルを用いたほかは実施例 3 と同

ちゲルを濾別水洗してデキストラン硫酸の固定されたセルロースゲルをえた。固定されたデキストラン硫酸により導入されたアニオン性官能基量は吸着体 1 ml あたり 18  $\mu\text{mol}$  であった。

#### 実施例 11

実施例 1~6 および 10 でえられた吸着体 1 ml ずつをポリプロピレン製ミニカラム (内径: 7 mm) に充填し、生理的食塩水で洗浄したのち、生理的食塩水で 10 倍希釈した抗 dsDNA 抗体を含む血清 0.1 ml を通液し、さらに 5 ml の 0.15 M トリス-HCl 緩衝液、pH 7.8 で洗い、そのすりぬけ分画の抗体価を固相酵素抗体法 (ELISA 法) により測定した。抗 dsDNA 抗体価は、DNA を付着したプレートに希釈した検体を滴下し、抗原-抗体反応を行い、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト免疫グロブリン抗体を滴下し、酵素発色反応を SLT-210 (商品名、ラボサイエンス精製) にて測定した。第 1 表に、各吸着体に固定されたアニオン性官能基を有する化合物名および各吸着体の原血清の抗体価に対するすりぬけ分画中の

(8)

抗体価を百分率で相対抗体価として示す。

第1表からポリアクリル酸またはデキストラン硫酸ナトリウムが固定された吸着体の抗dsDNA抗体結合能はとくにすぐれていることがわかる。

#### 実施例12

実施例3および7～9でえられた吸着体を用いたほかは、実施例11と同様の方法で相対抗体価を求めた。結果を用いた種々の水不溶性多孔質体名とともに第2表に示す。

第2表から、排除限界分子量が抗DNA抗体の分子量約16万より小さいセルロースGC-200およびセルロースGCL-90の抗dsDNA抗体結合能がややおとることがわかる。

#### 実施例13

実施例1～6および10でえられた吸着体を用い、抗ssDNA抗体価の高いSLE患者の血清を用いたほかは、実施例11と同様の方法で、相対抗ssDNA抗体価を求めた。結果を各吸着体に固定されたアニオン性官能基含有化合物名とともに

第3表に示す。

第3表からポリアニオン化合物の固定された吸着体の抗ssDNA抗体結合能がすぐれていることがわかる。

【以下余白】

第1表

実施例番号	アニオン性官能基を有する化合物	相対抗体価(%)
1	スルファニル酸	82.6
2	ホスホリルエタノールアミン	58.9
4	グリシン	50.0
5	タウリン	61.8
6	ポリアクリル酸	5.7
3	デキストラン硫酸ナトリウム	3.4
10	デキストラン硫酸ナトリウム	0.2

第2表

実施例番号	水不溶性多孔質体	相対抗体価(%)
3	セルロースCK-A3	3.4
7	セルロースCK-A22	1.2
7	セルロースGCL-2000	4.3
7	セルロースGC-700	42.8
7	セルロースGC-200a	65.7
7	セルロースGCL-90	97.6
8	セファロースCL-6B	5.1
9	ヒドロゲルFP-HG	19.4

第 3 表

実施例 番 号	アニオン性官能基 を有する化合物	相 対 抗 体 価 ( % )
1	スルファニル酸	71.1
2	ホスホリルエタノールアミン	92.3
4	グリシン	88.8
5	タウリン	96.1
6	ポリアクリル酸	45.7
3	デキストラン硫酸 ナトリウム	33.3
10	デキストラン硫酸 ナトリウム	20.2

## (9) 【発明の効果】

本発明の吸着体およびそれを用いる除去装置は体液より抗DNA抗体を選択的に除去する効果を奏する。

## 4 図面の簡単な説明

第1図は3種類のゲルを用いて流速と圧力損失との関係調べた結果を示すグラフである。

第2図は本発明の抗DNA抗体の除去装置の一実施例の概略断面図である。

(図面の主要符号)

(1) : 流入口

(2) : 流出口

(3) : 吸着体

(4)、(5) : フィルター

(7) : 容 器

特 許 出 願 人

鐘淵化学工業株式会社

代理人 弁 理 士

朝日奈宗太 ほか1名



図 1

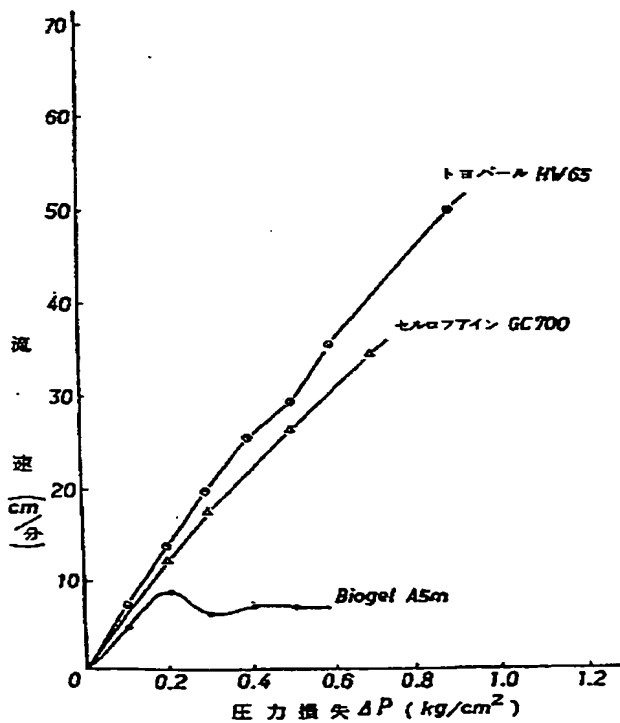
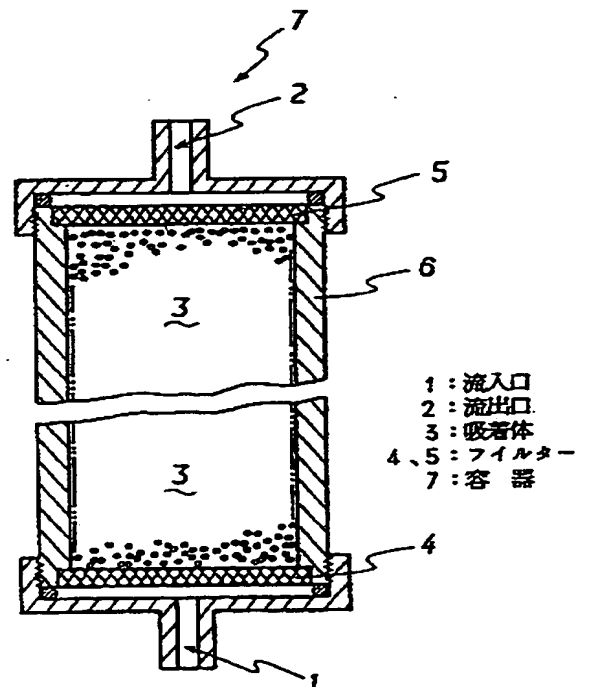


図 2



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**